Aus dem physiologischen Institut der Universität Basel
Leiter: Prof. Dr. *F. Verzár*

Indikan und Nebenniere

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Verena Stierlin
aus Schaffhausen

1939
Druck von Benno Schwabe & Co., Basel

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546708_0011

Aus dem physiologischen Institut der Universität Basel
Leiter: Prof. Dr. *F. Verzár*

Indikan und Nebenniere

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Verena Stierlin
aus Schaffhausen

1939
Druck von Benno Schwabe & Co., Basel

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von Professor Dr. F. Verzár.

Tag der Promotion: 23. Juni 1938.

Meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. F. Verzár danke ich bestens für die Ueberlassung des Themas und die Leitung dieser Arbeit.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Einleitung

Die Untersuchungen der *Stoffwechselstörungen nach Exstirpation der Nebennieren*, die auf den Ausfall der *Rinde* zu beziehen sind, haben zu dem Resultat geführt, daß diese auf eine Störung von Phosphorylierungen zurückführbar sind; die Frage, ob diese Phosphorylierungshemmung direkt oder indirekt erfolgt, sei hier nicht berührt. Sowohl die mangelhafte Restitution der Kohlehydrate im Muskel, als auch das Fehlen der selektiven Kohlehydratresorption, das Fehlen von Fettresorption sowie Fettwanderung und die mangelhafte Bildung von Flavinphosphorsäure aus Lactoflavin, wurden einheitlich hiermit erklärt. In allen diesen Fällen werden intermediär Phosphorsäureester (Hexosephosphorsäure, Glycerinphosphorsäure, Flavinphosphorsäure, Phosphatide) gebildet *(Verzár* und Mitarb. [1]*)*.

Es wäre möglich, daß damit nur eine viel weiter gehende Störung des Zellstoffwechsels ihren Ausdruck erhält. Man könnte in Anbetracht der vielen Störungen im Körper der adrenalektomierten Tiere glauben, daß diese überhaupt keine Synthesen vollführen. Es schien deshalb von Interesse, zu untersuchen, ob ganz andersartige Veresterungen als die oben erwähnten nach der Exstirpation der Nebennieren auch gestört sind.

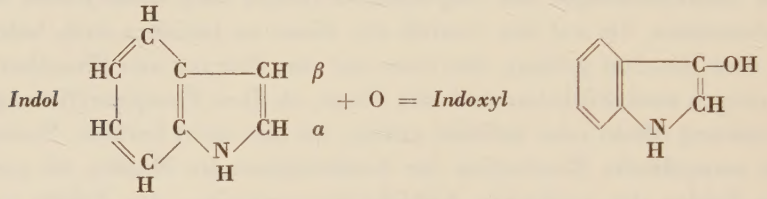
In den vorliegenden Untersuchungen wurde deshalb der Einfluß der Nebennieren auf die *Veresterung mit Schwefelsäure* studiert. Eine solche kommt im Organismus recht häufig als «Paarung» verschiedener, für den Körper giftiger Substanzen mit Schwefelsäure vor und dient immer der Entgiftung. Es handelt sich hauptsächlich um *Phenole* und ihre Derivate, die auf diesem Wege für den Körper unschädlich gemacht werden, und die nun als Ester harnfähig sind.

Zu den Phenolderivaten, die als Schwefelsäureester durch die Nieren ausgeschieden werden, gehört das *Indol*. Sein Schwefelsäureester ist das *Indikan*, das sich in gut meßbaren Mengen schon im normalen Urin befindet und dessen quantitativer Nachweis relativ leicht ist.

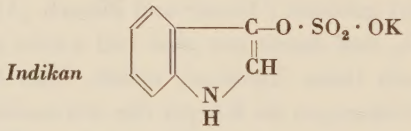
Indol kann dem Körper experimentell in zum Nachweis gut ausreichenden Mengen zugeführt werden, ohne daß schädliche Folgen eintreten. Aus diesen Gründen wurde zur Untersuchung einer Esterbildung mit Schwefelsäure beim nebennierenlosen Tier das Indikan gewählt.

Die folgenden Angaben über den Stoffwechsel von Indol seien hier kurz zusammengefaßt (2).

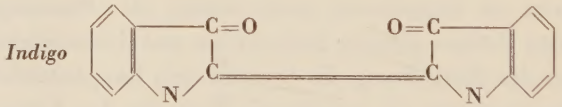
Indol ist ein Phenolderivat mit Stickstoffgehalt; es besteht aus einem Benzol- und einem damit orthokondensierten Pyrrolring.



Bei der Resorption wird es zu *Indoxyl* oxydiert, das zur Entgiftung mit Schwefelsäure und zu einem kleineren Teil auch mit Glucuronsäure gepaart wird. Dabei entsteht *Indikan* = indoxylschwefelsaures Kalium.



Eine typische Reaktion des Indikans ist seine Umwandlung in den bekannten blauen Farbstoff *Indigo*, durch Behandlung mit einer Säure und einem Oxydationsmittel. Dadurch wird die Schwefelsäure abgespalten, und zwei Moleküle des freigesetzten Indoxyls vereinigen sich unter Aufnahme von Sauerstoff zu Indigo.



Indikan findet sich in jedem normalen Harn in wechselnden Mengen. Nach ältern Angaben (2) schwankt die Tagesmenge zwischen 5 und 20 mg und steigt bei vorwiegender Fleischnahrung höher. *Böhm* (3) fand bei der Mehrzahl der Versuchspersonen bei eiweißfreier Kost über 30 mg im Tag.

Eine *Vermehrung* der Indikanausscheidung tritt bei starker Eiweißfäulnis im Darm, also bei Ileus jeder Aetiologie, besonders bei Stilllegung des Dünndarmes, bei Verdauungsstörungen, Obstipation, bei Peritonitis und bei allen andern Darmerkrankungen (Typhus abdominalis, Cholera, Darmtuberkulose, Darmblutungen, auch Bleikolik) ein. Ferner tritt gleichfalls eine Vermehrung bei anderen bakteriellen septischen Prozessen auch außerhalb des Darmes auf, so z. B. bei Abszessen, fortgeschrittener Phthise, fieberhaften Erkrankungen (Scharlach, Erysipel, Masern) und bei Eiweißzerfall durch Gastritis und Gastrektasie, Magenulcus und Magencarcinom, Leber- und Uteruscarcinom.

Große Indikanmengen im Urin weisen also darauf hin, daß irgendwo im Körper ein starker Zerfall von Eiweiß im Gange ist. Die quantitative Bestimmung des Indikans kann somit zur Erhärtung einer klinischen Diagnose verwendet werden.

Das *Indol* entsteht im Dünndarm als Produkt der Eiweißzersetzung aus dem Tryptophan. Indolbildende Bakterien sind die Coligruppe, Proteus, Diphtheriebazillen und andere.

1897 gab *Landi* (4) an, daß das Indol schon in der Darmwand zu Indoxyl oxydiert und mit Schwefelsäure verestert werde. *Pelkan* und *Whipple* (5) wiesen dann aber nach (1922), daß die Oxydation zu Indoxyl zwar zum Teil in der Darmwand und in andern Geweben, zur Hauptsache aber in der Leber stattfindet, während die Veresterung mit Schwefelsäure zu Indikan ausschließlich in der Leber vor sich geht. Bei Zufuhr von großen Mengen Indol, wie sie die genannten Autoren anwendeten, kann die Leber das Indoxyl, das ihr aus der Darmschleimhaut zugeführt wird, nicht vollständig abfangen und umwandeln. Es gelangt eine kleine Menge freies Indoxyl ins Blut, wo es mit der Phenolreaktion nach *Benedikt* und *Theiß* nachgewiesen werden kann. Daneben ist natürlich das Serum*indikan* stark erhöht.

Bei *Leberschädigung* nehmen nach großen Indolgaben die Phenole im Serum stärker und länger anhaltend zu als bei normaler Leber. Die Leber behält zwar ihr Kupplungsvermögen für Phenole, aber es ist verlangsamt, das freie Indoxyl bleibt länger im Kreislauf. Daneben ist das Indikan ebenfalls vermehrt, zum Zeichen, daß ein Teil des Indoxyls doch verestert wird. *(Pelkan* und *Whipple* [5].*)*

Klein und *Mahler* (6) untersuchten 1935 das Verhalten des Indikans bei Erkrankung der *Nieren*. Hier kann es vorkommen, daß Indikan retiniert wird; die Ausscheidung einer zugeführten Indikanmenge

dauert dann länger als 24 Stunden. Der Indikangehalt des Blutes steigt sehr hoch und sinkt nur langsam wieder ab. Die Indikanausscheidung bleibt aber bei erkrankten Nieren sehr lange gut; Indikanretention ist also schon ein Zeichen schwerer Nierenschädigung.

Böhm und *Grüner* (7) suchten in Versuchen an Kaninchen und am Menschen nach andern Indikanbildnern außer Indol. Sie wiesen nach, daß Indikan aus allen Indolderivaten, deren 2- und 3-Stellen (α und β) nicht substituiert sind, entsteht. Wenn diese Stellen besetzt sind, dann geht der Abbau der Substanzen einen andern Weg als über die β-Ringoxydation.

In derselben Arbeit gingen *Böhm* und *Grüner* noch einem andern, schon sehr alten Problem der Indolausscheidung nach. Seit *Wang* (8) ist es bekannt, daß von zugeführtem Indol beim Menschen höchstens 50% als Indikan im Harn erscheinen. Sie fanden nun, daß neben der Indikanreaktion im Urin die *Thormählen-Reaktion* auftritt (*Thormählen* 1887 [9]). Der reagierende Stoff konnte bis heute noch nicht isoliert werden. *Böhm* nimmt an, daß es sich um ein am Benzolring verändertes Indolderivat handelt, das dem 5,6-Dioxyindol nahesteht. Die Thormählen-Reaktion ist auch bei *Melanosarkom* positiv; *Fürth* und *Kaunitz* (10) fanden hier eine Substanz, die ebenfalls mit dem Dioxyindol nahe verwandt ist. *Böhm* und *Grüner* vermuten, daß vielleicht bei Melanosarkom die Leber so spezifisch geschädigt sei, daß Störungen im Indolhaushalt eintreten; denn auch bei intravenöser Zufuhr, wo normalerweise alles Indol in Indikan umgewandelt wird, kann eine positive Thormählen-Reaktion auftreten, wenn die Leber geschädigt ist.

Die Indikanausscheidung bei normalen und nebennierenlosen Ratten hat als erster *Sanada* (11) 1937 untersucht. Leider war es mir unmöglich, die Publikationen im japanischen Original zu erhalten, und ich bin auf die in den «Berichten über die gesamte Physiologie» über beide Arbeiten vorhandenen Autoreferate (12) angewiesen. Sie sind betitelt «Über die Beziehung zwischen der Indikansynthese im Organismus und der Nebenniere». Die I. Mitteilung sagt:

«1. Die durch Indolinjektion hervorgerufene Indikanausscheidung im Urin zeigte am 12. Tage nach einseitiger Nebennierenexstirpation deutliche Verminderung, am 22. Tage nach der Operation aber fast denselben Wert wie vor der Operation.

2. Die Indikanausscheidung war am 12. Tage nach der beiderseitigen Nebennierenexstirpation sehr beträchtlich vermindert, und zwar stärker als nach der einseitigen Nebennierenexstirpation. Am 22. Tage nach der beiderseitigen Neben-

nierenexstirpation zeigte die Indikanausscheidung im Urin nach der Indolinjektion eine gewisse Zunahme im Vergleiche mit der am 12. Tage nach der Operation. Doch war die Indikansynthese noch deutlich gestört.»

In der II. Mitteilung referiert *Sanada* über seine Indikanbestimmungen nach isolierter Kauterisation der Nebennierenrinde, respektive des Markes. Er glaubt, so die beiden Anteile der Nebenniere getrennt zerstören und nach dem Eingriff die Wirkung von Mark oder Rinde studieren zu können. Er findet, daß die Indikansynthese nach Zerstörung der Rinde ausfällt, während sie nach Kauterisation des Markes, also bei unverletzter Rinde, ungestört vor sich gehe.

Methodik

A. Quantitativer Indikannachweis

Für unsere ersten Versuche wurde die Indikanbestimmung nach den Angaben von *Zacherl* (13) durchgeführt, der 1935 die alte Methode von Obermayer zur quantitativen Messung des Indikans mit Hilfe des Stufenphotometers von Pulfrich modifizierte. Obermayer oxydierte das Indikan zu Indigo durch Zusatz von conc. HCl, das als Oxydationsmittel 0,2% Eisenchlorid enthält. Der Urin wird zuerst durch Ausfällen mit Bleiessig von Farbstoffen und von Eiweiß befreit. Das entstandene Indigo wird mit Chloroform ausgeschüttelt und die Extinktion dieser Lösung im Stufenphotometer abgelesen.

Die Resultate mit dieser Methode waren aber wenig befriedigend. Eine genauere Methode wurde 1935 von *Rose* und *Exton* angegeben (14) und von *Böhm* und seinen Mitarbeitern (1936 und 1937) für das Stufenphotometer modifiziert (3 und 7). Eine Ausfällung mit Bleiessig ist hier unnötig. Der Harn wird mit einem Tropfen Hexylresorcinollösung versetzt und eine Lösung von Cupribromid oder Ferrichlorid in conc. HCl zugegeben, dann mit Amylacetat oder besser mit Toluol ausgeschüttelt, wobei eine violette Lösung entsteht. Der Farbstoff ist nach *Böhm* (3) eine Indoxyl-Resorcinolverbindung.

Böhm hat in Parallelbestimmungen nach beiden Methoden gezeigt, daß die nach *Zacherl* gefundenen Indikanwerte viel niedriger liegen als die Mengen, die seine eigene Methode ergab; eingewogenes Indikan ließ sich nach *Zacherl* nur zum Teil wiederfinden, während die Methode

nach *Böhm* höchstens 5% Fehler aufwies. Er zeigt, daß bei der Ausfällung des Urins mit Bleiessig ein prozentuell wechselnder Teil des Indikans mitgerissen wird und das die Bestimmungsfehler verursacht.

Bei einer Wiederholung der Indikanbestimmungen in normalem Urin und mit eingewogenen, zum Teil sehr hohen Indikanmengen haben wir dieselben Resultate gefunden, wie unsere Tabelle I zeigt. Schon im normalen Urin waren die Indikanwerte nach *Zacherl* viel niedriger als nach *Böhm*. Dem Urin mit bekanntem Indikangehalt wurden dann verschiedene, zum Teil sehr große Mengen (bis über 200 mg%) Harnindikan (Merck) zugesetzt. Nach *Zacherl* wurde das eingewogene Indikan höchstens zu 79%, bei Zusatz großer Indikanmengen sogar zu einem noch viel kleineren Prozentsatz wiedergefunden (in einem Fall sogar nur 24%!), während die Methode nach *Böhm* im besten Fall nur 0,1% und bei sehr hohen Werten doch nicht mehr als 13% Fehler ergab.

Tabelle I

Vergleichende Indikanbestimmungen in Harn mit verschiedenen Methoden

Bestimmung mg%	Nach Böhm mg%	% Fehler	Nach Zacherl mg%	% Fehler
Normaler Harn	6,79		2,80	
Zusatz von *Indikan:*				
3,5	10,31	+ 0,19	4,98	— 20,95
7,0	13,64	— 1,09	6,64	— 32,24
13,0	17,90	— 9,55	8,01	— 49,31
Normaler Harn	5,01		1,63	
Zusatz von *Indikan:*				
18	25,46	+ 10,64	14,09	— 28,17
43	45,22	— 5,81	18,65	— 58,21
213	248,01	+ 13,76	49,80	— 76,09

Nach diesen Vorversuchen haben wir zu unsern Indikanbestimmungen nur noch die Methode nach *Rose-Exton-Böhm* angewendet.

B. Versuchsanordnung

Als Versuchstier wählten wir die *Ratte*. Das Sammeln des Urins ist nicht schwierig; die Urinmengen sind genügend groß für die Ausführung der Bestimmungen, und schon unter normalen Bedingungen

werden gut meßbare Indikanmengen ausgeschieden. Die Exstirpation der Nebennieren ist bei der Ratte relativ einfach und wird meist gut ertragen.

Zum Sammeln des Urins wurden besondere Behälter hergestellt aus großen Glasflaschen, die nach Entfernung des Bodens umgekehrt in Stative gehängt wurden. Die Ratte befindet sich im untern Teil der Flasche auf einem grobmaschigen Drahtnetz, das mit Drähten am obern Rand der Flasche aufgehängt ist. Unter den Flaschenhals stellt man das Gefäß zum Auffangen des Urins mit einem Trichter, der zum Abhalten von Faeces und Futterresten ein feines Drahtnetz trägt. Oben wird der Käfig mit einem bleibeschwerten Drahtnetz zugedeckt. Der unterste Teil der Flasche mit dem Hals und der Trichter sind mit festem Paraffin ausgegossen. So wird ein rasches Abfließen des Urins in das Gefäß garantiert und Verluste durch Verdunsten nach Möglichkeit ausgeschaltet. In dem Auffanggefäß befindet sich eine Schicht Paraffinöl, unter der sich der Urin sammelt.

In das Sammelgefäß wurde ferner immer etwas Sublimatlösung gegeben, um eine bakterielle Zersetzung des Urins zu verhindern. Das Sublimat hat keinen Einfluß auf die Bestimmungsreaktion.

Das unterstellte Gefäß wurde alle 24 Stunden gewechselt, die Urinmenge jedes Tieres gemessen und die quantitative Bestimmung des Indikans ausgeführt.

Um genügende Urinmengen zu bekommen, mußten wir vollständig ausgewachsene Tiere, im Gewicht von 200 bis 300 g, verwenden. Sie haben täglich 1,5 bis 15 ccm Harn. Die Tiere bekamen Wasser in beliebiger Menge aus den üblichen Tropfflaschen.

Einige (5–6) Tage vor Beginn der Versuche kamen die Tiere auf ein B-Vitamin-freies Futter. Das ist nötig, damit sie nach der Exstirpation der Nebennieren nicht überleben. Andererseits darf die B-freie Fütterung vor der Exstirpation nicht länger als 10–14 Tage dauern, sonst sterben die Tiere bereits innert 1–2 Tagen nach der Nebennierenexstirpation, wie aus Tab. X–XII ersichtlich ist.

Das Futter wurde alle 24 Stunden in ausreichender Quantität gegeben. Es war ein B-Vitamin-freies Futter von der folgenden Zusammensetzung:

Casein	200 g
Maisstärke	600 g
Kokosfett	90 g

Salzgemisch . . . . . 40 g
Lebertran . . . . . 10 ccm,
dazu soviel Wasser, daß ein fester Teig entsteht.

Im Laufe der Versuche war es nötig, den Tieren Indol zuzuführen. In der Literatur finden sich über solche experimentelle Indolgaben unter anderen folgende Angaben:

Böhm und *Grüner* (7) gaben in ihren Versuchen am Menschen Dosen von 1000 mg oral; bei der Katze beobachteten sie nach 18 mg Indol i. v. vorübergehende Krämpfe. *Macchia* (15) injizierte i. v. 0,5 mg pro kg Körpergewicht bei Mensch und Hund ohne Vergiftungserscheinungen; oral gab er 2 mg pro kg. *Klein* und *Mahler* (6) gaben dem Menschen bis zu 25 mg i. v. ohne Schädigung.

Für unsere Versuche wurde 1 g Indol mit Hilfe von Äther in 100 ccm Olivenöl gelöst. Die Ratten erhielten davon 1 ccm täglich, also 10 mg Indol, ohne daß Schädigungen bemerkbar wurden. Die ölige Lösung wurde den Tieren oral durch direktes Eintropfen in das Maul zugeführt.

Die Exstirpation der Nebennieren wurde in kurzdauernder Ätharnarkose durch einen Rückenschnitt einzeitig durchgeführt. Benützt wurden Hochfrequenzmesser und Spezial-Pincette mit Öse.

Versuche

Auf B-Vitamin-freiem Futter bestimmte ich mehrere Tage hintereinander die Indikanausscheidung. Dann wurde den Tieren an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 10 mg Indol per os zugeführt. Darauf folgten wieder einige Normaltage, und jetzt wurde die Exstirpation der Nebennieren vorgenommen. Am 6. und 7. Tage nach der Operation, wo erfahrungsgemäß die Nebenniereninsuffizienz voll ausgebildet ist, bekamen die Tiere wieder je 10 mg Indol. In der Folge wurden die täglichen Indikanbestimmungen entweder bis zum Tode des Tieres fortgeführt oder nach 1 bis 2 Wochen aufgegeben. Alle Versuchstiere außer D, E und F waren Weibchen.

Die Resultate der Versuche sind aus den Kurven in Abb. 1–3 (Normaltiere) und 4–8 (nebennierenlose Tiere) ersichtlich. Außer ver-

einzelten Fällen, die wegen methodischer Fehler ausgeschaltet werden mußten, zeigen die Werte des ausgeschiedenen Indikans bei allen Tieren im wesentlichen dasselbe Verhalten:

Indikanausscheidung bei normalen Tieren

Bei den Normaltieren schwankt die Tagesmenge des Indikans um einen Mittelwert, der für jedes Tier etwas anders liegt. Bei Ratte M ist das Niveau der Kurve am höchsten, bei Ratte K am tiefsten. Im allgemeinen sinkt das Indikan nicht unter 0,21 mg (Ratte L) und steigt nirgends höher als 1,50 mg p. d. (Ratte M).

24 Stunden nach der oralen Zufuhr von 10 mg Indol steigt bei allen Tieren das Indikan sehr stark an. Auch hier erreichen die einzelnen Tiere nicht genau dieselben Werte. Am wenigsten scheidet die Ratte N aus, wo die Tagesmenge nur 7,5 mg beträgt, was immerhin etwa ¾ des zugeführten Indols entspricht. Bei den übrigen Tieren liegt die Indikanmenge zwischen 8 und 10 mg, bis 10,8 mg bei Ratte L.

Tabelle II

Ratte K, ♀, Normaltier, 212 g, Futter B-frei

	Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
	17. III.	2,4	0,27	11
	18. III.	2,8	0,28	18
	19. III.	3,3	0,40	17
	20. III.	3,1	0,37	17
	21. III.	3,1	0,37	17
	22. III.	3,4	0,29	15
I	23. III.	3,4	0,25	15
	24. III.	3,6	8,42	15
	25. III.	2,3	2,90	9
	26. III.	3,4	0,79	12
	27. III.	3,4	0,79	15
	28. III.	7,0	0,82	13
	29. III.	2,8	0,53	11
	30. III.	3,7	0,68	10

I = 10 mg Indol per os.

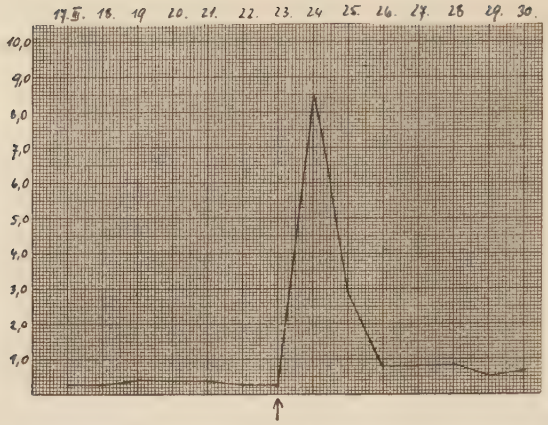


Abb. 1.

Tabelle III

Ratte N, ♀, Normaltier, 231 g, Futter B-frei

	Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
	29. III.	7,5	0,60	17
	30. III.	8,5	0,60	19
	31. III.	10,6	0,64	16
	1. IV.	6,7	0,57	15
	2. IV.	6,8	0,57	18
	3. IV.	7,1	0,43	17
I	4. IV.	7,1	0,43	15
I	5. IV.	6,2	7,50	11
	6. IV.	7,2	7,15	13
	7. IV.	5,3	1,28	11
	8. IV.	5,6	0,47	13
	9. IV.	5,4	0,41	10
	10. IV.	4,5	0,42	12
	11. IV.	4,5	0,42	11
	12. IV.	2,3	0,22	13
	13. IV.	3,9	0,48	11

I = 10 mg Indol per os.

Abb. 2.

Tabelle IV

Ratte O, ♀, Normaltier, 248 g, Futter B-frei

	Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
	29. III.	3,8	0,30	19
	30. III.	3,8	0,40	18
	31. III.	5,1	0,36	19
	1. IV.	4,1	0,27	18
	2. IV.	4,1	0,27	16
	3. IV.	3,1	0,26	19
I	4. IV.	3,1	0,26	18
I	5. IV.	3,2	8,68	16
	6. IV.	3,4	7,52	16
	7. IV.	6,2	1,89	19
	8. IV.	5,8	0,91	17
	9. IV.	3,5	0,65	13
	10. IV.	4,5	0,55	13
	11. IV.	4,5	0,55	13
	12. IV.	5,9	0,53	17
	13. IV.	4,8	0,62	14

I = 10 mg Indol per os.

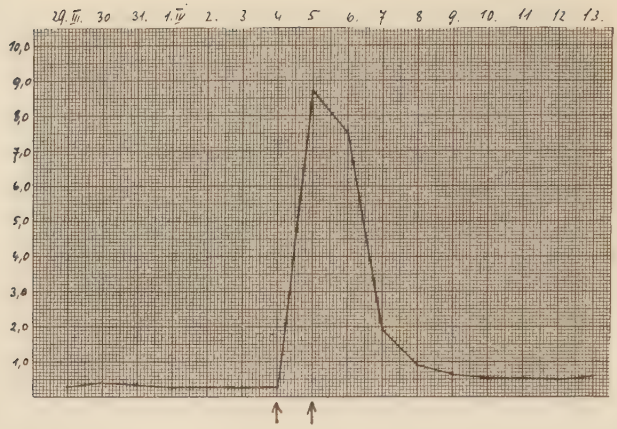


Abb. 3.

Am nächsten Tage zeigt das Indikan noch einen ganz leicht erhöhten Wert. (Tabelle II.) Am zweiten Tage hat es in allen Fällen wieder normale Höhe erreicht. Wird an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 10 mg Indol gegeben, so ist trotzdem die Ausscheidung 48 Stunden später fast ganz beendet. (Tab. III und IV.)

Dasselbe Resultat erhielt ich auch noch bei zwei weiteren Tieren (L und M, Tab. V und VI), die im nächsten Kapitel besprochen werden.

Bei der normalen Ratte wird also das Indol zu 80–100 % als Indikan ausgeschieden. Es zeigen sich lange nicht so große Verluste, wie sie für den Menschen (über 50% nach *Wang* [8]) angegeben werden.

Indikanausscheidung vor und nach der Exstirpation der Nebennieren

An zwei Tieren (L und M, Tab. V und VI) wurden, nachdem die Indikanausscheidung nach Indolzufuhr am Normaltier bestimmt war, die Nebennieren exstirpiert und die Ausscheidung des Indikans weiter bestimmt. Am 5. und 6. Tage nach der Operation wurden dieselben Indolmengen wie vorher gegeben. Bei drei weiteren Tieren (D, E, F) sind keine vollständigen Normalversuche vorhanden – es wurden nur wenige Tage vor der Operation Indikanbestimmungen durchgeführt – sondern nur solche nach der Nebennierenexstirpation. (Tabellen VII, VIII und IX.)

Tabelle V

Ratte L, ♀, Normaltier, 232 g, Futter B-frei

	Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g	
	18. III.	8,7	0,63	19	
	19. III.	8,0	0,58	19	
	20. III.	8,1	0,59	19	
	21. III.	7,4	0,41	19	
	22. III.	7,4	0,41	19	
	23. III.	8,3	0,61	16	
I	24. III.	5,2	0,41	14	
I	25. III.	4,2	10,60	18	
	26. III.	3,5	10,85	15	
	27. III.	4,6	0,86	16	
	28. III.	4,6	0,86	10	
	29. III.	6,8	0,79	16	
	30. III.	9,4	0,77	19	
	31. III.	9,6	0,84	17	
		Operation 2. April 1938			
	3. IV.	3,1	0,45	9	
	4. IV.	3,1	0,45	9	
	5. IV.	2,6	0,56	11	
	6. IV.	1,6	0,21	11	
I	7. IV.	1,6	0,28	15	
I	8. IV.	4,2	9,70	10	
	9. IV.	5,2	9,09	11	
	10. IV.	1,5	0,56	13	
	11. IV.	1,5	0,56	12	
	12. IV.	1,4	0,59	15	
	13. IV.	2,0	0,66	15	Versuch
	14. IV.	1,6	0,61	14	abgeschlossen

I = 10 mg Indol per os.

Protokoll der Ratte L: Vom 15. März an B-freies Futter. Versuchsbeginn am 18. März. Exstirpation der Nebennieren am 2. April. Am 9. April Gewicht 183 g, am 29. April 137 g. Tod an Nebenniereninsuffizienz am 12. Mai 1938.

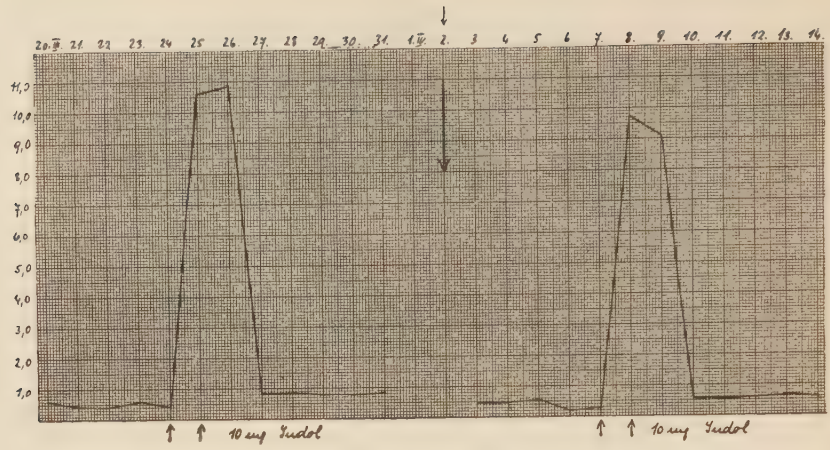


Abb. 4.

Tabelle VI

Ratte M, ♀, Normaltier, 232 g, Futter B-frei

	Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
	18. III.	11,5	0,86	19
	19. III.	6,4	0,69	18
	20. III.	9,4	0,69	19
	21. III.	11,6	1,50	19
	22. III.	11,6	1,50	19
	23. III.	7,1	1,38	17
I	24. III.	9,4	0,77	18
I	25. III.	13,5	9,48	19
	26. III.	13,2	9,75	17
	27. III.	8,4	1,26	16
	28. III.	8,4	1,26	15
	29. III.	13,5	0,77	17
	30. III.	8,3	1,00	17
	31. III.	14,1	1,00	16

Tabelle VI

	Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
		Operation 2. April 1938		
	3. IV.	11,1	0,57	18
	4. IV.	11,1	0,57	18
	5. IV.	9,5	0,90	13
	6. IV.	7,7	0,66	10
I	7. IV.	13,9	1,05	16
I	8. IV.	5,5	9,88	14
	9. IV.	5,4	10,43	6
	10. IV.	4,2	0,91	12
	11. IV.	4,2	0,91	12

Tod am 11. April 1938.

I = 10 mg Indol per os.

Protokoll der Ratte M: Vom 15. März an B-freies Futter. Versuchsbeginn am 18. März. Exstirpation der Nebennieren am 2. April. Am 9. April Gewicht 186 g. Tod an Nebenniereninsuffizienz am 11. April 1938.

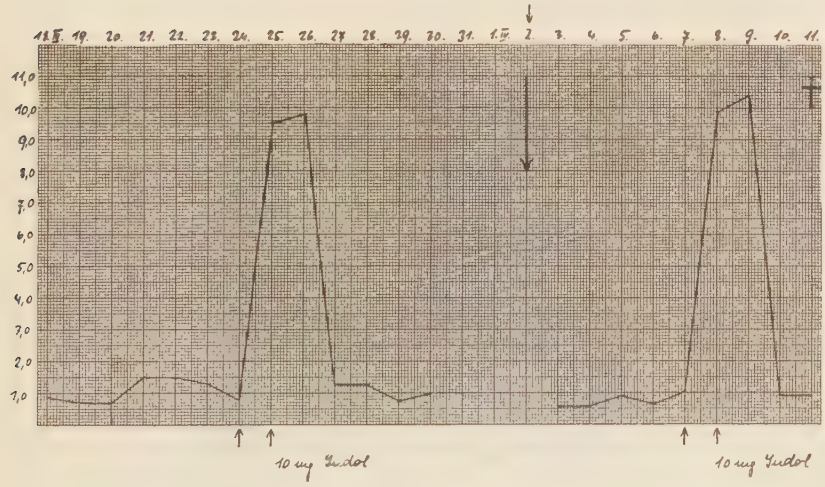


Abb. 5.

Tabelle VII

Ratte D, ♂, Normaltier, 295 g, Futter B-frei

	Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
	25. II.	8,8	1,21	27
	26. II.	5,2	1,00	23
	27. II.	3,5	0,58	25
	28. II.	3,5	0,58	25
	1. III.	3,7	0,72	21
		Operation 1. März 1938		
	3. III.	4,7	0,62	14
	4. III.	2,9	0,45	10
	5. III.	2,7	0,36	14
	6. III.	6,0	0,66	17
I	7. III.	6,0	0,66	17
I	8. III.	5,0	9,69	10
	9. III.	4,1	9,87	14
	10. III.	5,3	2,09	14
	11. III.	4,2	0,80	16
	12. III.	8,2	0,95	14
	13. III.	5,0	0,79	10
	14. III.	5,1	0,59	13

I = 10 mg Indol per os.

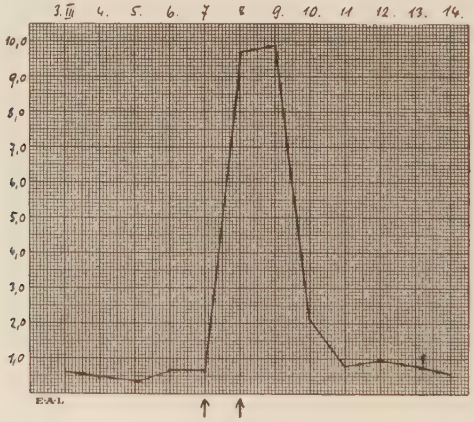


Abb. 6.

Tabelle VIII

Ratte E, ♂, Normaltier, 272 g, Futter B-frei

	Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
	25. II.	6,2	1,79	27
	26. II.	5,8	2,06	23
	27. II.	4,5	1,61	30
	28. II.	4,6	1,61	22
	1. III.	2,6	0,85	21
		Operation 1. März 1938		
	3. III.	2,2	0,78	18
	4. III.	2,6	0,91	16
	5. III.	5,4	1,13	19
	6. III.	3,1	1,12	24
I	7. III.	3,0	1,12	17
I	8. III.	4,0	8,17	14
	9. III.	5,5	8,13	17
	10. III.	3,6	1,48	19
	11. III.	3,6	1,22	19
	12. III.	2,6	1,27	13
	13. III.	6,2	1,47	9
	14. III.	6,2	1,47	16

I = 10 mg Indol per os.

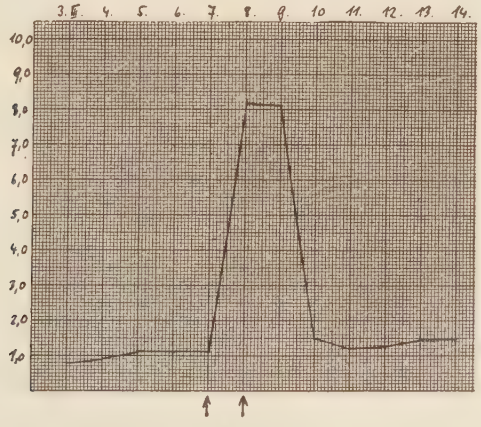


Abb. 7.

Tabelle IX

Ratte F, ♂, Normaltier, 290 g, Futter B-frei

	Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
	25. II.	6,3	1,10	27
	26. II.	6,8	1,85	25
	27. II.	5,4	0,86	28
	28. II.	5,5	0,86	25
	1. III.	3,5	0,63	24
		Operation 1. März 1938		
	3. III.	6,0	0,59	20
	4. III.	4,9	0,50	25
	5. III.	5,6	0,43	26
	6. III.	5,1	0,66	27
I	7. III.	5,1	0,66	24
I	8. III.	5,9	9,48	19
	9. III.	4,5	10,18	21
	10. III.	5,5	2,19	20
	11. III.	4,4	0,90	19
	12. III.	3,3	0,54	13
	13. III.	3,4	0,57	10
	14. III.	3,5	0,57	15

I = 10 mg Indol per os.

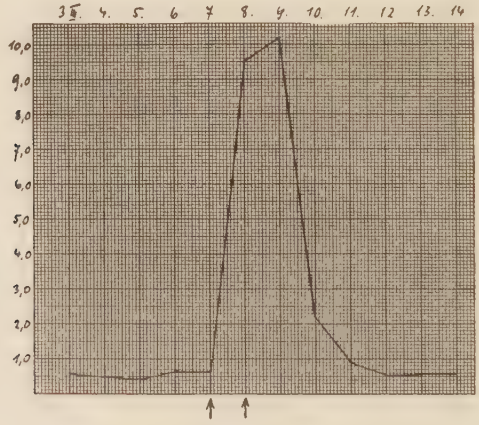


Abb. 8.

Die Indikanwerte nach der Exstirpation der Nebennieren entsprechen den Werten vor der Operation. In manchen Fällen (D, F, L) liegen sie, aber auch nur in den ersten Tagen, etwas tiefer, was sich leicht aus der verminderten Nahrungsaufnahme der frisch operierten Tiere erklären läßt. Am 5. und 6. Tage nach der Operation erfolgt nun die Zufuhr von je 10 mg Indol, die sofort mit einem hohen Anstieg der Indikanmengen im Urin am 6. und 7. Tage beantwortet wird; die Tageswerte halten sich an diesen Tagen zwischen 8,13 mg (E) und 10,4 mg (M). Am 8. Tage nach der Operation, das heißt 48 Stunden nach der letzten Indolzufuhr, ist die Tagesmenge des Indikans nur noch leicht erhöht gegenüber dem Normalen, und am 9. Tage nach der Operation ist sie bei allen Tieren wieder auf der normalen Höhe angelangt.

In den ersten 24 Stunden nach der Indolgabe wird auch hier etwa 80–100 % ausgeschieden, und wieder ist die Ausscheidung in den ersten 24 Stunden sozusagen vollkommen beendet. Ein Tier (M) starb am 10. Tage nach der Nebennierenexstirpation, als die Indikankurve eben wieder normale Werte erreicht hatte. Der Tod trat jedenfalls infolge Nebenniereninsuffizienz ein. Trotzdem hatte das Tier noch eine Indikanausscheidung von annähernd 100 %.

Bei allen Tieren wurde durch Sektion das Fehlen der Nebennieren nachgewiesen; es konnten nie Reste von Nebennierengewebe oder Regenerate gefunden werden. In den Organen von 5 Tieren (B, C, D, E und F) wurde eine Bestimmung des Lactoflavins (16) durchgeführt. Sie ergab in allen Fällen die typischen Veränderungen des nebennierenlosen Organismus, ein weiterer Beweis dafür, daß die Tiere sicher nebennierenlos waren.

Wirkung einer Vitamin-B-freien Ernährung auf die Indikan-Ausscheidung

Als zufälliger Nebenbefund mag folgendes interessant sein: Zwei der oben aufgeführten Normaltiere (N und O) und ein drittes Tier (P) wurden nach der experimentellen Indolzufuhr einige Zeit auf B-freier Kost belassen. Etwa einen Monat nach Versuchsbeginn, also nach einem Monat B-freier Kost, hatten die Tiere sehr viel an Körpergewicht verloren. Die Indikanbestimmungen wurden nun wieder aufgenommen und ergaben bei allen drei Tieren eine starke Zunahme des Indikans auf das Doppelte bis Dreifache der Anfangswerte. (Tab. X, XI und XII.)

Tabelle X

Ratte N, ♀, Normaltier, Futter B-frei

cf. auch Tabelle III

Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
10. IV.	4,6	0,42	12
11. IV.	4,5	0,42	11
12. IV.	2,3	0,22	13
13. IV.	3,9	0,48	11
14. IV.	4,6	0,53	12
Abbruch der Indikanbestimmung und Neuaufnahme am 24. April 1938			
24. IV.	8,5	0,72	14
25. IV.	8,5	0,72	14
26. IV.	11,7	0,82	13
27. IV.	19,9	1,48	13

Protokoll der Ratte N: B-freies Futter vom 23. März an. Gewicht am 23. März 231 g, am 27. April 132 g. Nebennierenexstirpation am 28. April. Tod am 29. April 1938.

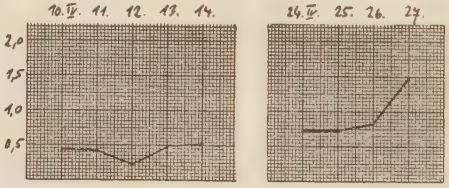


Abb. 9.

Tabelle XI

Ratte O, ♀, Normaltier, Futter B-frei

cf. auch Tabelle IV

Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
10. IV.	4,5	0,55	13
11. IV.	4,4	0,55	17
12. IV.	5,9	0,53	16
13. IV.	4,8	0,62	14
14. IV.	5,2	0,69	15
Abbruch der Indikanbestimmung und Neuaufnahme am 24. April 1938			
24. IV.	10,5	1,15	16
25. IV.	10,5	1,15	16
26. IV.	9,9	0,51	14
27. IV.	13,2	0,80	14

Protokoll der Ratte O: B-freies Futter vom 23. März 1938 an. Gewicht am 23. März 248 g, am 27. April 141 g. Nebennierenexstirpation am 28. April. Tod am 29. April 1938.

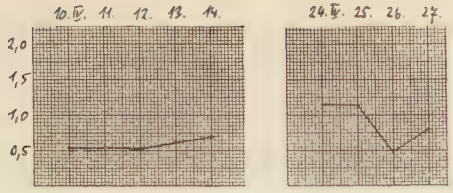


Abb. 10.

Tabelle XII

Ratte P, ♀, Normaltier, Futter B-frei

Datum	Urinmenge ccm	Tages-Indikan mg	Futter g
10. IV.	4,4	0,21	16
11. IV.	4,3	0,40	19
12. IV.	4,1	0,24	17
13. IV.	4,3	0,47	14
14. IV.	3,2	0,23	16
Abbruch der Indikanbestimmung und Neuaufnahme am 24. April 1938			
24. IV.	7,6	1,11	12
25. IV.	7,6	1,11	13
26. IV.	8,6	1,19	14
27. IV.	12,2	1,69	13

Protokoll der Ratte P: B-freies Futter vom 23. März 1938 an. Gewicht am 23. März 239 g, am 27. April 154 g. Nebennierenexstirpation am 28. April. Tod am 29. April 1938.

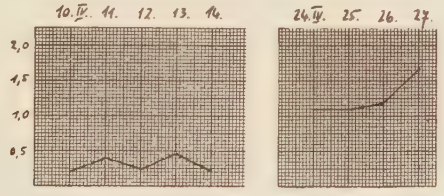


Abb. 11.

Alle drei Tiere starben einige Tage später sofort nach der Nebennierenexstirpation, wie das zu erwarten war; denn es ist bekannt (17), daß B-avitaminotische Tiere die Nebennierenexstirpation nur ganz kurz überleben. Die Sektion ergab äußerste Abmagerung und starke Blähung des Dickdarmes.

Die Ursache dieses Indikananstieges bei B-Avitaminose, parallel mit der starken Abnahme des Körpergewichtes, ist nicht ganz klar. Eventuell ist sie die Folge einer Darmlähmung; aber es ist wahrscheinlicher, daß sie von dem vermehrten Eiweißabbau im Körper herrührt, wie er bei der starken Abmagerung stattgefunden hat. Wie oben ausgeführt wurde, ist die Indikanmenge im Harn auch beim Menschen bei den verschiedensten Krankheitszuständen mit vermehrtem Eiweißabbau außerhalb des Darmes erhöht.

Diskussion

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, daß die Indikanausscheidung beim nebennierenlosen Tier nicht geringer ist als beim Normaltier. Auch nach künstlicher Zufuhr von großen Indolmengen ist die ausgeschiedene Menge nach der Nebennierenexstirpation in einigen Fällen ungefähr gleich, in andern etwas höher und selten um einen verschwindenden Betrag, der noch innerhalb der Fehlergrenzen liegt, niedriger als vor der Operation.

Dieses Resultat unserer Versuche steht in direktem Widerspruch zu den Angaben von *Sanada* (11, 12). Am 12. Tage nach der Operation, einem der Stichtage von *Sanada*, war in unseren Versuchen die Indikanmenge bei sämtlichen Tieren durchaus im Bereiche des Normalen. Selbst am 22. Tage oder direkt vor dem Tode ist kein Unterschied festzustellen.

Die neue Methode der Indikanbestimmung von *Böhm* hat *Sanada* noch nicht anwenden können, da diese erst im April 1937, also etwas später als seine Arbeit, erschien.

Daß in seinen Versuchen die *einseitige* Nebennierenexstirpation schon eine Verminderung der Indikansynthese zur Folge haben soll, während sonst bekanntlich bei der Ratte eine Nebenniere vollständig genügt, um den Ausfall der andern zu kompensieren, ist an sich schon unwahrscheinlich. Ebenso ist eine totale Kauterisation der Nebennierenrinde ohne Verletzung des Markes und umgekehrt an den Nebennieren der Ratte technisch unmöglich.

Es kann also aus meinen Versuchen mit Sicherheit geschlossen werden, daß die Nebennieren auf die Umwandlung des Indols zu Indoxyl und auf dessen Veresterung mit Schwefelsäure keinen Einfluß haben. Es liegt also hier eine *Esterbildung* vor, die *unabhängig vom Nebennierenrindenhormon* vor sich geht.

Zusammenfassung

1. Durch vergleichende Indikanbestimmung nach den Methoden von *Obermayer-Zacherl* und *Rose-Exton-Böhm* in verschiedenen normalen Harnen mit eingewogenen Indikanmengen wird die Angabe von *Böhm* bestätigt, daß die erstgenannte Probe viel zu niedrige Werte ergibt, während die Methode von *Böhm* auch bei sehr hohen Indikanmengen höchstens ca. 10% Fehler hat. Eine genaue quantitative Bestimmung des Indikans ist also nur nach der letzteren Methode möglich.

2. In Versuchen an normalen und nebennierenlosen Ratten wird nachgewiesen, daß das Fehlen der beiden Nebennieren auf die Indikanbildung aus Indol keinen Einfluß hat. Die tägliche Indikanausscheidung bleibt nach der Nebennierenexstirpation bis zum Tode gleich.

3. Durch experimentelle Zufuhr von großen Mengen Indol vor und nach der Nebennierenexstirpation wird dies besonders deutlich gemacht; die Tiere scheiden dabei nach wie vor der Operation 80–100% des zugeführten Indols innert 24 Stunden als Indikan aus.

4. Mehrere Wochen lang Vitamin-B-frei ernährte Tiere haben eine erhöhte Indikanausscheidung.

Literatur

1. *Verzár, F.*, Kongreßbericht des XVI. internationalen Physiologenkongresses, Zürich 1938.
2. *Spaeth-Kaiser*, Chemische und mikroskopische Untersuchung des Harnes, 6. Auflage 1936, p. 146 ss.
3. *Böhm, F.*, und *G. Grüner*, Klin. Wschr. 1936, p. 1279.
4. *Landi, L.*, Maly's Jahresbericht der Tierchemie **27**, 645 (1898).
5. *Pelkan, K. P.* und *G. H. Whipple*, J. biol. Chem. **50**, 499 u. 513 (1922).
6. *Klein, O.*, und *P. Mahler*, Med. Klin. 1935 II, p. 1043.
7. *Böhm, F., G. Grüner* und *E. Böhm*, Biochem. Z. **290**, 137 (1937).
8. *Wang, E.*, Z. physiol. Chem. **27**, 556 (1898).
9. *Thormählen, J.*, Virchows Arch. **108**, 317 (1887).
10. *Fürth, O.*, und *H. Kaunitz*, Biochem. Z. **253**, 231 (1932).
11. *Sanada, E.*, Fol. endocrin. jap. **12**, deutsche Zusammenfassung p. 60–61 (1937).
12. *Sanada, E.*, Autoreferate, Ber. ges. Physiol. **99**, 110 (1937).
13. *Zacherl, M. K.*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **200**, 113 (1933).
14. *Rose, A. R.*, und *W. G. Exton*, J. biol. Chem. **109**, 76 (1935).
15. *Macchia, E.*, Soc. ital. Biol. sper. **10**, 717 (1935).
16. *Verzár, F., H. Hübner* und *L. Laszt*, Biochem. Z. **292**, 152 (1937).
17. *Csik, L.*, und *Méhes, Gy.* Arbeiten des Ungarischen Biol. Forschungs-Institutes IV. S. 536. 1931.